



Tersedia daring pada: <http://ejurnal.undana.ac.id/index.php/JVN>

# ISOLASI, PREVALENSI DAN UJI SENSITIVITAS ANTIBIOTIK TERHADAP *Escherichia coli* SEROTIPE O157 PADA AYAM BURAS YANG DIPERDAGANGKAN DI PASAR TRADISIONAL DI KOTA KUPANG

## Isolation, Prevalence And Antibiotic Sensitivity Test Of *Escherichia coli* Serotype O157 From Local Chicken Are Selling In The Traditional Market Kupang City

Nathasya Pelt<sup>1</sup>, Maxs U. E. Sanam<sup>2</sup>, Elisabet Tangkonda<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana Kupang.

<sup>2,3</sup>Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana Kupang.

### Abstract

#### Riwayat Artikel:

Diterima:

28 Juli 2016

Direvisi:

15 Agustus 2016

Disetujui:

1 September

#### Keywords:

Isolation, Prevalence, Sensitivity Antibiotic Test, *Escherichia coli*, *E. coli* O157:H7, Local Chicken.

*Escherichia coli* is a Gram negative bacteria of cocobacill in ranging from 2,2  $\mu\text{m}$  and 0,4-0,7 $\mu\text{m}$  and 0,8  $\mu\text{m}$  diameter, occurring single or in pairs, flagella peritricus motile, facultative anaerobic, and including to *eneterobactericeae* family. *E. coli* inhabits the lower ileum and large intestine of most vertebrates with colonization of the neonatal gastrointestinal tract occurring within hours of birth. *E. coli* O157:H7 is a zoonotic agent, can causes bloody diarrhea, hemolytic uremic syndrome (HUS) and trombotic thrombocytopenic purpura (TTP) in human. Chicken was known as one important reservoir of *E. coli* O157:H7. The aims of this study were to isolate, prevalence and antibiotic sensitivity test of *E. coli* O157:H7 in local chickens are selling in the traditional market Kupang City. The bacteria was isolated by culturing the agent in Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) medium, isolated from emba then used to Gram staining, Biochemical test, O157 Latex agglutination test and antibiotic sensitivity test. Results of study showed that 33 (41,25%) out of 80 chicken's fecal samples were identified as *E. coli* O157. This *E. coli* O157 are sensitive to ciprofloxacin, ampicilin, amoxicillin, tetracycline and cefoxitin. ciprofloxacin in the Muller Hinton Agar media (MHA). The results showed that *P. multocida* was isolated from one tracheal swab samples. This *P. multocida* isolates were sensitive to ciprofloxacin, while are resistant to ampicillin, amoxicillin, tetracycline and cefoxitin.

Korespondensi : [maxi\\_sanam@yahoo.com](mailto:maxi_sanam@yahoo.com)

## PENDAHULUAN

*Escherichia coli* (*E. coli*) adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang dengan formasi sel tunggal atau berpasangan dan merupakan anggota famili *Enterobacteriaceae*. Kuman *E. coli* adalah flora normal intestinal berperan terhadap fungsi normal intestin (Noviana, 2004). *E. coli* O157:H7 merupakan bakteri yang mempunyai peran cukup penting dalam penyakit zoonosis. Penyebarannya dapat melalui kontak langsung dengan feses, kontak dengan peralatan kandang yang terkontaminasi, melalui air dan makanan yang terkontaminasi, seperti makanan yang mentah atau daging yang dimasak kurang matang.

Infeksi *Verocytotoxigenik Escherichia coli* (VTEC) mempunyai arti penting dalam kesehatan manusia karena menyebabkan diare berdarah, *hemolytic uremic syndrome* (HUS) dan *thrombotic thrombocytopenic purpura* (TTP) (Hanif *et al.*, 2003). Ayam diketahui merupakan salah satu reservoir penting dari bakteri *E. coli* O157:H7 yang perlu diwaspadai selain sapi sebagai reservoir utamanya (Heuvelink *et al.*, 1999 cit Suardana, 2014).

Di Indonesia penelitian yang dilakukan Suardana (2014) dari 76 sampel feses ayam yang diambil menunjukkan tingkat prevalensi sebesar 8,54%. Berdasarkan data yang diperoleh dari Dinas Peternakan Provinsi Nusa Tenggara Timur pada tahun 2007 tercatat kasus *kolibasilosis* sebanyak 129 kasus yang terjadi pada ayam di daerah Sumba Timur.

Di Kota Kupang berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan Tang (2015) dari 39 sampel feses ayam ras yang diambil dari beberapa Pasar Tradisional di Kota Kupang terdapat 27 sampel yang menunjukkan hasil positif *E. Coli* O157:H7 dengan tingkat prevalensi 69,23%.

Penggunaan antibiotika untuk mengatasi penyakit unggas saat ini masih merupakan pilihan terbaik bagi para peternak ayam. Menurut Krisnaningsih (2005) dalam penggunaan antibiotik untuk mengatasi kolibasilosis, sangat perlu diperhatikan adanya sifat sensitivitas yang berbeda-beda untuk setiap serotipe *E. coli*. Beberapa serotipe

resisten terhadap satu atau lebih antibiotik. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya penyakit kolibasilosis yang disebabkan oleh *E. coli* O157 pada ayam buras, menghitung tingkat prevalensi yang terjadi di Kota Kupang dan menguji sensitivitas antibiotik terhadap *E. coli* serotipe O157 yang diperdagangkan di Pasar Tradisional di Kota Kupang.

## MATERI DAN METODE

### Pengambilan sampel

Sampel feses dari ayam diulas pada daerah kloaka menggunakan *cotton swab*. Kemudian sampel dimasukkan dalam pot tabung berisi NaCl dan disimpan dalam cool box untuk selanjutnya dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana untuk dilakukan pemeriksaan. Pengambilan sampel dilakukan di Pasar Kasih Naikoten Kupang dan Pasar Oeba.

### Isolasi *Escherichia coli* dan Identifikasi Makroskopis

Swab kloaka ayam yang diambil dari Pasar Kasih Naikoten Kupang dan Pasar Oeba ditanam pada media *selektif Sorbitol MacConkey Agar* (SMAC) menggunakan ose dengan membuat goresan T, yang selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 20-24 jam. Koloni yang tumbuh berwarna jernih.

### Identifikasi Mikroskopis (Pewarnaan Gram)

Pewarnaan Gram dilakukan untuk melihat morfologi dari *E. coli*. Isolat *E. coli* dari media SMAC dibuat preparat apus secara aseptis dengan menggunakan ose steril kemudian dicampurkan dengan NaCl steril yang telah ditetaskan pada gelas objek dan dihomogenkan, setelah itu dikeringkan dan difiksasi di atas api Bunsen. Selanjutnya preparat diwarnai menggunakan pewarnaan Gram. Pewarnaan pertama yang dipakai adalah karbol gentian violet yang ditetaskan dan dibiarkan meresap selama 2 menit, preparat dicuci di bawah air mengalir kemudian diberi lugol selama 1 menit, kemudian dibilas dan diberi alkohol 95%

selama 1 menit dan zat warna kedua yang dipakai adalah safranin yang didiamkan selama 2 menit kemudian preparat dicuci dibawah air mengalir dan dikeringkan dengan posisi miring. Preparat yang telah diwarnai diamati di bawah mikroskop. Bakteri digolongkan sebagai bakteri Gram positif apabila terwarnai ungu dan digolongkan Gram negatif jika terwarna merah muda.

### Uji Biokimia (Uji fermentasi karbohidrat)

Koloni *suspect E. coli* kemudian diuji kemampuan fermentasi karbohidrat dengan menggunakan media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*). Isolat di kultur dengan metode streak sinambung. Jika koloni suspek adalah *E. coli* maka media TSIA akan berubah warna menjadi kuning, hal ini dikarenakan sifat *E. coli* yang mampu memfermentasi laktosa, sukrosa, dan glukosa yang terkandung dalam media TSIA.

### Uji Biokimia (Uji Motilitas)

Untuk mengetahui sifat motilitas dilakukan dengan menginokulasikan isolat *E. coli* dari media NA pada media *Sulfur Indol Motility* (SIM). Diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Jika koloni tumbuh di luar lokasi tusukan maka dikatakan motil.

### Uji Serologis dengan *Latex Agglutination Test*

Pengujian dengan menggunakan *E. coli* O157 *Latex Agglutination Test* (Oxoid DR620 M). Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya presipitasi pada kertas lateks sesuai dengan kontrol.

### Uji sensitivitas antibiotik

Uji sensitivitas antibiotik menggunakan *Mueller Hinton Agar* (MHA) dengan antibiotik amoksisilin 25µg, tetrasiklin 30µg, ampicilin 10µg, sefoksitin 30 µg dan siprofloksasin 5 µg. Koloni berumur 24 jam diambil dan dihomogenkan dengan aquadest steril sampai homogen. Kekeruhan bakteri disesuaikan dengan standar *Mc Farland 5* ( $1 \times 10^8$  sel/ml). Diambil 1 ml dan dikultur pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dengan metode sebar lalu

dibiarkan sampai kering, kemudian diberikan lempeng kertas antibiotik amoksisilin 25µg, tetrasiklin 30µg, ampicilin 10µg, sefoksitin 30µg dan siprofloksasin 5µg. Lempeng selanjutnya diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C selama 18 sampai 24 jam. Zona hambat yang terbentuk diukur diameternya (mm) menggunakan jangka sorong dan diinterpretasi. Hasil pengujian metode ini ditunjukkan dengan adanya daerah bening/jernih di sekeliling paper disk (cakram) sebagai daerah hambatan (zona inhibisi) pertumbuhan bakteri.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi *Escherichia coli* dan Identifikasi Makroskopis

Pengujian *Escherichia coli* menggunakan media *selektif Sorbitol MacConkey Agar* (SMAC). Bakteri yang dapat tumbuh pada media SMAC adalah *E. Coli* yang berwarna pink dan *E. coli* O157 yang berwarna bening karena ketidakmampuan bakteri untuk memfermentasi sorbitol (Gambar 3). Karakteristik koloni-koloni yang tumbuh pada media SMAC ini sama dengan yang dilaporkan Suardana (2014) dimana koloni *E. coli* O157 yang tumbuh berwarna bening karena ketidakmampuan memfermentasikan sorbitol. Dari 80 sampel yang diambil sebanyak 33 sampel yang tidak dapat memfermentasikan sorbitol (sorbitol negatif) dengan ciri koloni berwarna bening.

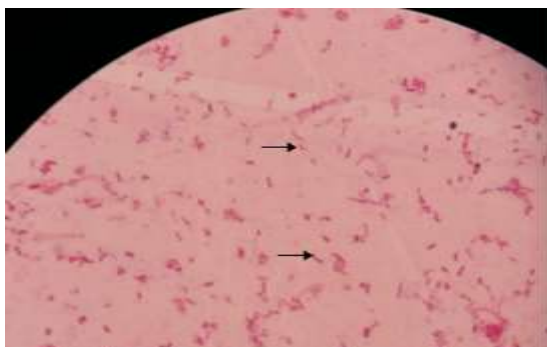


Gambar 1. Terlihat adanya koloni *E.coli* yang berwarna pink dan terduga koloni *E.coli* O157 yang berwarna bening karena ketidakmampuan memfermentasi sorbitol (sorbitol negatif).

(a menunjukkan koloni *E. coli* dan b menunjukkan terduga koloni *E. coli* O157)

### Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan dengan tujuan untuk lebih memastikan bahwa koloni yang tumbuh merupakan koloni *E. coli*. Berdasarkan hasil pewarnaan gram terlihat adanya koloni berbentuk batang pendek/kokobasil dan berwarna merah muda karena dinding sel bakteri Gram negatif menyerap zat pewarna kedua yaitu safranin (Gambar 4) sesuai dengan pernyataan Widiasih (2012) bahwa *Escherichia coli* adalah bakteri Gram negatif yang termasuk keluarga *enterobacteriaceae* berbentuk batang pendek (kokobasil) dengan ukuran panjang 0,4-0,7  $\mu\text{m}$  dan lebar 1,4  $\mu\text{m}$ .



Gambar 2. Gambaran mikroskopis *E. coli* (anak panah menunjukkan adanya koloni *E. coli* berbentuk batang pendek)

### Uji Fermentasi Karbohidrat

Pengujian ini menggunakan media *Triple Sugar Iron agar* (TSIA) dimana dalam media TSIA ini terdapat laktosa, sukrosa dan glukosa. Berdasarkan hasil pengujian yang dilakukan, isolat *E. coli* yang ditanam pada TSIA menunjukkan perubahan warna dari merah menjadi kuning baik pada bagian tegak maupun miring (Gambar 5). Perubahan warna menjadi kuning karena *E. coli* mampu memfermentasikan laktosa, sukrosa dan glukosa yang terkandung dalam media TSIA (Quinn *et al.*, 2006).



Gambar 3. Perubahan warna merah menjadi kuning pada media TSIA baik pada bagian tegak dan miring

### Uji Motilitas

Pengujian ini menggunakan media *Sulfid Indol Motility* (SIM) agar. Berdasarkan hasil pengujian yang dilakukan, isolat *E. coli* yang ditanam pada media SIM menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri diluar garis tusukan (Gambar 6). Pertumbuhan bakteri diluar garis tusukan dikarenakan *E.coli* merupakan bakteri yang memiliki flagella peritrikus motil (Quinn *et al.*, 2006).



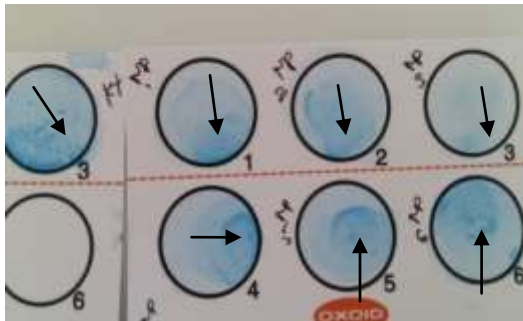
Gambar 4. Pertumbuhan bakteri yang terlihat menyebar dari garis tusukan (Motil)

### Uji Serologis dengan *Latex Agglutination Test*

Pengujian serologis dilakukan dengan menggunakan kertas *Latex Agglutination Test* Oxoid DR620M. Berdasarkan hasil pengujian



yang dilakukan, isolat *E. coli* O157 yang dicampur dengan NaCl fisiologis direaksikan dengan pereaksi latex test menunjukkan adanya presipitasi/aglutinasi pada kertas seperti butiran pasir berwarna biru kegelapan sesuai dengan kontrol yang dibuat (Gambar 7). Presipitasi yang muncul pada kertas latex ini sama dengan yang dilaporkan Suardana (2014) dimana adanya presipitasi/aglutinasi pada kertas latex. Pengujian dengan menggunakan latex test sangat akurat dengan tingkat sensitivitas 100% serta tingkat spesifisitas 99%, dikatakan positif *E. coli* O157 jika pada pengujian terbentuknya penggumpalan/aglutinasi pada kertas latex (Suardana, 2014)



Gambar 5. Hasil positif uji *E. coli* O157 pada kertas latex agglutination test (anak panah menunjukkan adanya presipitasi/aglutinasi)

### Prevalensi *Escherichia coli* O157.

Tabel 1. Hasil penelitian 80 sampel ayam buras yang diperdagangkan di Pasar Kasih Naikoten Kupang dan Pasar Oeba Kupang.

Lokasi		Status		Total
		Negatif	Positif	
Pasar	Naikoten	39	25	64
	Oeba	8	8	16
<b>Total</b>		47	33	80

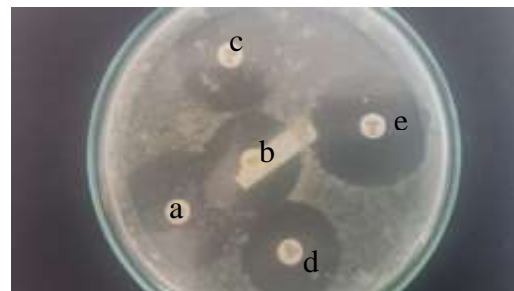
Berdasarkan hasil penelitian, terdapat 33 sampel positif *E. coli* O157 dari total 80 sampel atau dapat dikatakan angka prevalensi yang menunjukkan tingkat kejadian *E. coli* O157 sebesar 41,25% (33/80). Tingkat prevalensi kejadian *E. coli* O157 pada masing-masing pasar adalah Pasar Kasih Naikoten sebesar

39,06% (25/64), sedangkan pada Pasar Oeba sebesar 50% (8/16).

Hasil uji Chi-square menunjukkan tidak terdapatnya pengaruh antara lokasi dengan prevalensi *E. coli* O157. Tingginya tingkat prevalensi kemungkinan dipengaruhi oleh manajemen pemeliharaan. Berdasarkan hasil observasi pada kedua lokasi Pasar yaitu Pasar Kasih Naikoten Kupang dan pada Pasar Oeba Kupang, manajemen pemeliharaan yang diterapkan seperti manajemen kandang kurang baik dimana kandang yang disiapkan tidak sesuai jumlah ayam buras yang diperjualbelikan. Kandang yang tersedia sangat sedikit dengan jumlah ayam buras yang banyak, kandang juga tidak memakai alas kandang sehingga kotoran dari ayam yang sebelumnya masih menempel di dalam kandang sehingga memungkinkan ayam yang lain tertular. Kebersihan dari kandang juga tidak diperhatikan, berdasarkan hasil observasi kandang tidak dibersihkan sebelum menerima ayam baru yang akan diperjualbelikan.

### Uji Sensitivitas Antibiotik

Pengujian sensitivitas antibiotik dilakukan dengan menggunakan media *Mueller Hinton Agar (MHA)*. Hasil pengujian terhadap antibiotik amoksisilin 25 µg, tetrasiklin 30 µg, ampicilin 10 µg, sefoksitin 30 µg dan siprofloksasin 5 µg menunjukkan antibiotik siprofloksasin memiliki diameter zona hambat terbesar yaitu 29 mm, disusul berturut-turut ampicilin 27 mm, amoksisilin 25 mm, tetrasiklin 23 mm, dan sefoksitin 22 mm seperti tersaji pada gambar 8.



Gambar 6. Hasil uji sensitivitas antibiotik. Diameter zona hambat Amoksisilin (a) 25 mm,

Tetrasiklin (b) 23 mm, Ampisilin (c) 27 mm, sefoksitin (d) 22 mm, siprofloksasin (e) 29 mm.

Tabel 2. Interpretasi zona inhibisi terhadap antibiotika menurut National Community For Clinical Laboratory Standard (NCCLS).

N o	Jenis Antibiotik	Sensi tif (mm)	Intermedi ate (mm)	Resist en (mm)
1	Amoksisilin 25 µg	≥ 28	22-27	≤ 21
2	Tetrasiklin 30 µg	≥ 19	15-18	≤ 14
3	Ampicilin 10 µg	≥ 14	12-13	≤ 11
4	Sefoksitin 30 µg	≥ 18	16-17	≤ 15
5	Siprofloksasin 5 µg	≥ 21	16-20	≤ 15

Tabel 4. Hasil uji sensitivitas antibiotik terhadap *E. coli* O157.

No	Jenis Antibiotik	Hasil (mm)	Keterangan
1	Amoksisilin 25 µg	25	Intermediet
2	Tetrasiklin 30 µg	23	Sensitif
3	Ampicilin 10 µg	27	Sensitif
4	Sefoxitin 30 µg	22	Sensitif
5	Siprofloksasin 5 µg	29	Sensitif

Berdasarkan hasil yang didapat menunjukkan keempat antibiotik yang digunakan memiliki sensitivitas terhadap bakteri *E. coli* O157 yaitu tetrasiklin, ampisilin, sefoksitin dan siprofloksasin. Amoksisilin merupakan antibiotik kelompok amino bensil penisilin berspektrum luas, aktif terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif serta mudah terabsorpsi dengan baik secara oral dan tahan terhadap keasaman lambung (Wibowo *et al.*, 2009). Kondisi tersebut memungkinkan konsentrasi obat di jaringan menjadi lebih tinggi. Mekanisme kerja antibiotik ini adalah penghambatan sintesis dinding sel bakteri yang

dapat menyebabkan lemahnya dinding sel dan abnormalitas pertumbuhan bakteri tersebut, sehingga berakibat rupturnya sel bakteri (Wibowo *et al.*, 2009).

Tetrasiklin merupakan kelompok antibiotika yang dihasilkan oleh jamur *streptomyces aureofaciens* bersifat bakteristatik dengan jalan menghambat sintesis protein dengan cara mengikat unit ribosom sel kuman 30S hingga mencegah terbentuknya amino-asetil RNA. Tetrasiklin merupakan antibiotika dengan daya jangkauan luas. Bakteri Gram negatif yang peka meliputi *E. coli*, *Shigella*, *salmonella*, *proteus* dan *pseudomonas* (Yuriadi, 2003).

Ampisilin adalah anggota kelompok penisilin yang tahan terhadap asam lambung. Penisilin dapat menghambat perkembangan dinding sel kuman dengan jalan menjadikan inaktiv. Ampisilin efektif melawan bakteri seperti *streptococcus*, *staphylococcus fecalis*, *corynebacterium*, *clostridium*, *E. coli*, *brucella* dan *pasteurella* (Yuriadi, 2003).

Sefoksitin merupakan generasi kedua dari sefalosporin yang memiliki aktivitas pada bakteri anaerob dan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang. Sefoksitin biasa digunakan untuk mengobati penyakit enterik yang disebabkan oleh Gram negatif pada anjing dan kucing.

Siprofloksasin merupakan antibiotik golongan fluorokinolon generasi kedua. Obat ini lebih aktif terhadap bakteri Gram negatif dibanding bakteri Gram positif. Siprofloksasin bekerja dengan menghambat enzim DNA-Girase dan aktivitas ensimatik dari suatu bakteri ditentukan oleh jumlah lipid dan lipoprotein yang dikandung dari bakteri tersebut. Bakteri Gram negatif memiliki komposisi lipid sebanyak 11-22% sementara bakteri Gram positif hanya memiliki komposisi lipid 1-4%. Sehingga Siprofloksasin lebih efektif dalam membunuh bakteri Gram negatif (Kumala *et al.*, 2009).

## KESIMPULAN

Kuman *E. coli* O157 dapat diisolasi dari ayam buras yang diperdagangkan di Pasar Kasih Naikoten Kupang dan Pasar Oeba Kupang. Dari 80 sampel feses ayam buras yang diperdagangkan di Pasar Kasih Naikoten Kupang dan Pasar Oeba Kupang, diperoleh 33 sampel positif *E. coli* O157 atau prevalensi 41,25%. Hasil uji sensitivitas antibiotik terhadap 33 isolat *E. coli* O157, menunjukkan tetrasiklin, ampicilin, sefoksitin dan siprofloksasin merupakan antibiotik yang sensitif terhadap bakteri *E. coli* O157.

## SARAN

Dapat dilakukan penelitian lanjutan untuk mengkonfirmasi *E. coli* O157:H7 dengan antigen H7, Tetrasiklin, ampicilin, sefoksitin dan siprofloksasin merupakan antibiotik yang dapat digunakan untuk pengobatan kasus yang disebabkan oleh *E. coli* O157

## DAFTAR PUSTAKA

- Hanif, S.K.S., Sumiarto, B., Budiharta, S. 2003. Prevalensi dan Analisis Faktor-Faktor Infeksi *Escherichia coli* O157:H7 Pada Peternakan Sapi Perah Rakyat di Kabupaten Sleman. *J. Sain Vet.* **21:1-5**.
- Heuvelink, A.E., Zwartkruis Nahu, J.T.M., Beumer, R.R. and Boer, E.D. 1999. Occurrence and Survival of Verocytotoxin Producing *Escherichia coli* O157 in Meats Obtained from Retail Outlets in the Netherlands. *J. Food Protect.* **62(10):1115-1121** cit Suardana, I.W. 2014. Identifikasi *Escherichia coli* O157:H7 dari Feses Ayam dan Uji Profil Hemolisisnya pada Media Agar Darah, *Jurnal Kedokteran Hewan.* **8:1-5**.
- Noviana, H. 2014. Pola Kepekaan Antibiotika *Escherichia coli* yang Diisolasi Dari Berbagai Spesimen Klinis, *J. Kedokteran Trisakti.* **23:1-5**.
- Suardana, I.W. 2014. Identifikasi *Escherichia coli* O157:H7 dari Feses Ayam dan Uji Profil Hemolisisnya pada Media Agar Darah, *Jurnal Kedokteran Hewan.* **8:1-5**.
- Tang, C. 2015. Isolasi dan Identifikasi bakteri *Escherichia coli* serotype O157:H7 pada Ayam yang Diperdagangkan Di Kota Kupang, Skripsi Universitas Nusa Cendana Kupang.
- Wibowo, H.M., Amanu, S. 2009. Efektivitas Pengobatan Preparat Kombinasi Amoksisilin dan Kolistin Sulfat pada Kasus Infeksi Buatan *Escherichia coli* Patogen pada Ayam Broiler. *J. Sain Vet.* **27:1-9**.
- Yuriadi. 2003. Resistensi dan Sensitivitas Bakteri pada Kuda Penderita Pneumonia di Wilayah DIY. *J. Sain Vet.* **21:6-13**